

Praca oryginalna

**Tlenek azotu w powietrzu wydechowym
u chorych na obturacyjny bezdech podczas snu****Exhaled nitric oxide in patients with obstructive sleep apnea syndrome**

Tadeusz Przybyłowski, Piotr Bielicki, Marta Kumor, Katarzyna Hildebrand, Marta Maskey-Warzęchowska, Adam Fangrat, Katarzyna Górka, Piotr Korczyński, Ryszarda Chazan

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii, AM w Warszawie
Kierownik: Prof. dr hab. med. R. Chazan

Summary: Exhaled nitric oxide has been extensively investigated as a non-invasive marker of airway inflammation. Some authors have suggested that morning FE_{NO} in obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) patients is elevated due to inflammation of upper airways, while others have not found any differences between patients and healthy subjects. The purpose of this study was to analyze concentration of exhaled nitric oxide (FE_{NO}) in OSAS patients.

Methods: 119 (99 M, 20 F) consecutive patients of sleep laboratory participated in this study. Standard overnight sleep studies with polysomnography or portable screening device were carried out in the whole group: OSAS was diagnosed in 66 patients and 53 no-OSAS served as controls. FE_{NO} was measured on-line with a flow rate kept at 0.045 – 0.055 l/s, according to the recommendations of ATS using a chemiluminescence analyzer twice: before the sleep study (8–10 p.m.) and after termination of data collection (6 – 8 a.m.). There were no differences in age between patients and controls. Respiratory disturbance index (RDI) was 40.3 ± 24.9 in patients and 3.7 ± 2.8 in controls ($p < 0.001$). In OSAS patients both evening and morning FE_{NO} was significantly higher compared to controls (23.1 ± 14.8 ppb vs. 16.8 ± 9.8 ppb and 22.4 ± 13.2 ppb vs. 15.3 ± 8.1 ppb respectively, $p < 0.05$). Weak but statistically significant correlations for the whole group between morning FE_{NO} and mean and minimum arterial oxygen saturation (SAO_2) during sleep and number of study minutes with $SAO_2 < 90\%$ were observed. Lower evening FE_{NO} in OSAS patients with coexisting arterial hypertension when compared to normotensive OSAS patients was also noticed (19.1 ± 10.8 ppb vs. 27.1 ± 19.1 ppb; $p < 0.05$).

Conclusions: The increase in FE_{NO} in OSAS patients may be caused by repetitive apneas and hypoxemia during sleep.

Pneumonol. Alergol. Pol. 2006, 74, 21:25

Key words: obstructive sleep apnea, exhaled nitric oxide, polysomnography

Wprowadzenie

Obturacyjny bezdech podczas snu (OBPS) jest schorzeniem występującym powszechnie. Autorzy jednego z najczęściej cytowanych opracowań epidemiologicznych uważają, że 2% kobiet oraz 4% mężczyzn w średnim wieku spełnia kryteria rozpoznawcze tej jednostki chorobowej. Istotą zaburzeń są powtarzające się wielokrotnie każdej nocy bezdechy obturacyjne – wynikające z zapadania się miękkich części górnych dróg oddechowych. Najbardziej typowym objawem OBPS w czasie snu jest wyjątkowo głośne i nieregularne chrapanie, co, w wyniku uderzania miękkich części dróg oddechowych o siebie, może prowadzić do rozwoju miejscowego stanu zapalnego (19).

W ostatnich latach coraz większą uwagę zwraca się na nieinwazyjne metody oceny nasilenia zapalenia w drogach oddechowych. Jedną z częściej wykorzystywanych jest pomiar stężenia tlenku azotu (NO) w powietrzu wydechowym (*fractional*

concentration of exhaled nitric oxide – FE_{NO}). Wykazano, że stężenie NO w powietrzu wydechowym ulega zwiększeniu między innymi w astmie, alergicznym nieżytach nosa, zakażeniach układu oddechowego, u części chorych na POChP oraz w innych jednostkach chorobowych (3, 20, 21).

Znaczenie NO w układzie oddechowym chorych na OBPS nie zostało zbyt dobrze poznane, a literatura dostępnych publikacji dostarcza rozbieżnych opinii. Olopade i wsp. (11) wykazali, że FE_{NO} u chorych na OBPS jest istotnie wyższe w godzinach rannych niż wieczornych. Natomiast Agusti i wsp. (1) po przebadaniu grupy chorych na OBPS o znacznym stopniu zaawansowania nie stwierdzili istotnych różnic w FENO w porównaniu do grupy kontrolnej.

Celem tego opracowania była ocena profilu FENO u chorych na OBPS.

Tabela I. Charakterystyka badanej grupy

Table I. Characteristic of study groups

Parameter	grupa OBPS / OSAS n=66	grupa K / controls n=53	p
Płeć (M/K) / Sex (M/F)	55/11	44/9	ns
Wiek (lata) / Age (years)	53,8±12,7	49,8±10,5	ns
BMI (kg/m ²)	31,0±5,3	28,5±3,7	<0,05
AHI/RDI (h-1)	40,3±24,9	3,7±2,8	<0,001
Średnie SaO ₂ w czasie snu / Mean SaO ₂ during sleep (%)	89,9±4,4	93,3±3,0	<0,05
FEV ₁ (% nal) / FEV ₁ (% pred)	85,4±16,6	91,0±27,5	ns
FVC (% nal) / FVC (% pred)	96,9±15,5	90,3±17,4	ns
FEV ₁ /FVC	80,1±4,7	80,0±3,4	ns
Palacze tytoniu / Current smokers (%)	33	27	ns
Nadciśnienie tętnicze / Arterial hypertension (%)	50	33	< 0,05

BMI – wskaźnik masy ciała, body mass index

AHI/RDI – liczba zaburzeń oddychania w czasie snu /godzinę snu; number of respiratory disturbances during sleep/hour of sleep

SaO₂ – wysycenie krwi tętniczej tlenem; arterial oxygen saturation

FEV₁ – natężona objętość wydechu pierwszosekundowa; forced expiratory volume at first second FVC – natężona pojemność życiowa; forced vital capacity

Material i metoda

Badanie przeprowadzono w grupie 119 pacjentów Poradni Zaburzeń Oddychania w Czasie Snu działającej przy Klinice Chorób Wewnętrznych Pneumologii i Alergologii. Na podstawie wyników badań w czasie snu badanych podzielono na dwie grupy: chorych (grupa OBPS) oraz grupę kontrolną, u których rozpoznanie OBPS zostało wykluczone (grupa K). (Tab I).

Badania w czasie snu u 47% badanych przeprowadzono przy użyciu zestawów polisomnograficznych Alice4 (Respironics USA), Somnostar 4250 (SensorMedics, USA), a u 53% metodą uproszczoną – z wykorzystaniem zestawu POLYME-SAM (MAP, Niemcy). Badania trwały zazwyczaj od godziny 23⁰⁰ do godziny 6⁰⁰ następnego dnia. Szczegóły metodyki badań w czasie snu oraz rodzaj rejestrowanych parametrów przedstawiono w innym opracowaniu (13).

Do pomiaru FE_{NO} wykorzystano zestaw Niox (Aerocrine, Szwecja) działający w oparciu o metodę chemiluminescencji w systemie on-line. Badania prowadzono zgodnie z zaleceniami ATS (2), przepływ wydechu utrzymywano w zakresie 0,045 – 0,055 l/s, a za wynik końcowy przyjmowano wartość średnią z 3 pomiarów nieróżniących się między sobą o więcej niż 10%. Stężenie NO w powietrzu wydechowym oceniano przed badaniem polisomnograficznym/POLYMESAM w godzinach 20⁰⁰-22⁰⁰, oraz następnego dnia po jego zakończeniu w godzinach pomiędzy 6 a 8 rano. Szczegóły techniczne pomiaru FE_{NO} przedstawiono w innym opracowaniu (12). Plan badania został zaakceptowany przez Komisję Bioetyczną AM w Warszawie (decyzja KB/175/2004).

Opracowanie statystyczne

Zmienne jakościowe przedstawiono jako średnia ± odchylenie standardowe. Ze względu na brak normalności rozkładu FE_{NO}, dla porównania pomiędzy grupą OBPS oraz grupą K wykorzystano test z istotności rozkładu, a w celu porównania różnic w FE_{NO} pomiędzy pomiarem wieczornym i rannym

w obydwu grupach posłużono się testem Wilcozona. Do oceny rozkładu zmiennych jakościowych wykorzystano test χ^2 . Korelacje pomiędzy badanymi parametrami oceniano z wykorzystaniem współczynnika korelacji Pearsona. Za znamienne statystycznie przyjęto wartość $p < 0,05$.

Wyniki

W godzinach wieczornych stężenie NO w powietrzu wydechowym w grupie OBPS wynosiło 23,1±14,8 ppb i było statystycznie wyższe niż u w grupie K (16,8±9,8 ppb; $p < 0,05$) (Ryc. 1a). FE_{NO} w godzinach rannych było również istotnie wyższe u chorych na OBPS niż w grupie K (22,4±13,2 ppb vs. 15,3±8,1 ppb; $p = 0,001$) (Ryc. 1b). W obydwu grupach nie stwierdzono natomiast istotnych różnic pomiędzy FE_{NO} w godzinach wieczornych i rannych (Ryc. 2a i 2b). W godzinach wieczornych FE_{NO} u chorych na OBPS ze współistniejącym nadciśnieniem tętniczym było istotnie niższe niż w grupie chorych na OBPS bez nadciśnienia tętniczego (19,1±10,8 ppb vs. 27,1±19,1 ppb; $p < 0,05$) (Ryc. 3). Podobnych zależności nie obserwowano w grupie K.

Analizując całą badaną grupę stwierdzono istnienie znamiennych korelacji pomiędzy FE_{NO} w godzinach rannych a wartością AHI/RDI (Rycina 4), średnią wartością wysycenia krwi tętniczej tlenem podczas snu ($r = -0,23$; $p < 0,05$), minimalnym wysyceniem krwi tętniczej tlenem (SaO₂) podczas snu ($r = -0,28$; $p < 0,05$) oraz liczbą minut badania z SaO₂ < 90% ($r = 0,38$; $p = 0,006$). W przypadku FE_{NO} oznaczanego w godzinach wieczornych znamienne

Rycina 1. FE_{NO} u chorych na OBPS i w grupie kontrolnej: a – w godzinach wieczornych, b – w godzinach rannych
Figure 1. FE_{NO} in OSAS patients and controls: a – in the evening, b – in the morning

Rycina 2. FE_{NO} w godzinach wieczornych oraz rannych; a – chorzy na OBPS, b – grupa kontrolna
Figure 2. Evening and morning eFE_{NO} ; a – OSAS patients, b- controls

Rycina 3. FE_{NO} w godzinach wieczornych u chorych na OBPS: NT+ vs. NT-
NT – nadciśnienie tętnicze
Figure 3. Evening FENO in OSAS patients: HT+ vs. HT-
HT – arterial hypertension

Rycina 4. Korelacja pomiędzy AHI/RDI a FE_{NO}
Figure 4. Correlation between AHI/RDI and FE_{NO}

korelacje obserwowano jedynie dla średniego wysycenia krwi tętniczej tlenem podczas snu ($r=-0,22$; $p<0,05$).

Omówienie

Według wiedzy autorów jest to pierwsze opracowanie dotyczące zmian stężenia wydychanego tlenu azotu u chorych na OBPS przeprowadzone w tak dużej grupie chorych; w dwóch innych badaniach udział wzięło odpowiednio 20 (11) oraz 24 chorych (1) oraz niewielka liczba osób zdrowych. Najistotniejszą obserwacją wynikającą z przeprowadzonych przez nas badań jest to, że FE_{NO} u chorych na OBPS jest istotnie wyższe niż u osób bez zaburzeń oddychania w czasie snu. Wyniki te dość istotnie różnią się od opublikowanych do tej pory, co utrudnia ich dokładną interpretację. Cytowani już wcześniej Olopade i wsp. wykazali, że stężenie NO w powietrzu wydychanym jest u chorych na OBPS istotnie większe w godzinach rannych niż wieczornych. Co prawda, autorzy nie zaprezentowali wyników porównania statystycznego stężenia NO w powietrzu wydechowym u chorych na OBPS oraz w grupie kontrolnej, ale z podanych liczb wynika, że stężenie NO w godzinach rannych było u chorych na OBPS niższe niż w grupie kontrolnej ($10,9 \pm 1,5$ ppb vs. $16,9 \pm 6,2$ ppb). W innym opracowaniu Agusti oraz wsp. (1) nie stwierdzili istotnych różnic pomiędzy chorymi na OBPS a grupą kontrolną, nie obserwowali ponadto żadnych korelacji pomiędzy FE_{NO} i wykładnikami nasilenia OBPS czy współistnieniem chorób układu sercowo – naczyniowego.

Poza rozpoznaniem OBPS, badane przez nas grupy różniły się między sobą jedynie wartością BMI oraz faktem częstszego współistnienia nadciśnienia tętniczego wśród chorych na OBPS. W piśmiennictwie brak jest pewnych informacji na temat wpływu masy ciała na FE_{NO} , przeciwko takiej zależności przemawia także brak korelacji pomiędzy obydwoma wskaźnikami w badanej przez nas grupie.

Mimo, że nadciśnienie tętnicze częściej rozpoznawano u chorych na OBPS, to wpływ czynników związanych z tą chorobą na różnice w FE_{NO} wydaje się mało prawdopodobny. Wykazaliśmy, że FE_{NO} w godzinach wieczornych jest istotnie niższe w grupie ze współistniejącym OBPS oraz nadciśnieniem tętniczym. Taki kierunek zmian teoretycznie powinien „zmniejszyć” różnice pomiędzy chorymi na OBPS oraz grupą kontrolną. Warto zaznaczyć, że niższe wartości FE_{NO} u chorych na nadciśnienie tętnicze w porównaniu do osób z prawidłowym ciśnieniem tętniczym obserwowali również inni autorzy (17, 22). W związku z tym, że w ostatnim

czasie pojawiły się doniesienia mówiące o zwiększeniu FE_{NO} po zastosowaniu inhibitorów enzymu konwertującego angiotensynę (ACEI) (6, 7) można rozważać ewentualny wpływ leków z tej grupy na różnice zaobserwowane pomiędzy chorymi na OBPS oraz grupą kontrolną. Za brakiem istotnego wpływu samego nadciśnienia tętniczego, jak i ACEI na zmiany FE_{NO} przemawia jednak fakt utrzymywania się znamiennych statystycznie różnic pomiędzy badanymi grupami po ponownym przeprowadzeniu analizy statystycznej w mniejszej grupie, z której wykluczono wszystkich chorych na nadciśnienie tętnicze oraz przyjmujących ACEI.

Na podstawie aktualnego stanu wiedzy ustalenie czynnika odpowiedzialnego za zwiększenie FE_{NO} u chorych na OBPS jest dość trudne. Uważa się, że podstawowym źródłem wydychanego NO jest układ oddechowy (przede wszystkim komórki nabłonka oraz komórki stanu zapalnego) (3, 20), a nie przedostawanie się do pęcherzyków płucnych NO syntetyzowanego przez komórki śródbłonka naczyń (16). Przeciwno koncepcji „naczyniowego” pochodzenia NO w powietrzu wydechowym przemawiają także wyniki badań, w których wykazano, że stres oksydacyjny związany z OBPS jest istotnym czynnikiem odpowiedzialnym za upośledzenie funkcji śródbłonka naczyń przebiegające ze zmniejszeniem stężenia metabolitów NO w surowicy krwi oraz upośledzeniem zdolności do wazodilatacji (8, 9, 10, 18,). Leczenie za pomocą ciągłego dodatkowego ciśnienia w drogach oddechowych poprawia funkcję śródbłonka i w krótkim czasie od rozpoczęcia leczenia normalizuje stężenie metabolitów NO w surowicy krwi (8).

Jak już wcześniej wspomniano najlepiej poznaną przyczyną zwiększenia stężenia wydychanego tlenu azotu jest stan zapalny dróg oddechowych (3, 20). Wydaje się, że do rozwoju istotnego stanu zapalnego dróg oddechowych dochodzi również w przebiegu OBPS. Rubinstein wykazał w 1995 r (14), że liczba granulocytów wielojądrzastych w popłuczynach z jam nosa jest istotnie większa u chorych na OBPS niż w grupie kontrolnej, natomiast Sekosan i wsp. opisali istnienie komórkowych nacieków zapalnych oraz pogrubienie blaszki właściwej błony śluzowej języczka u chorych na OBPS poddawanych zabiegowi uwulopalatofaryngoplastyki (19). Dowodów na istnienie stanu zapalnego dróg oddechowych chorych na OBPS dostarczają także wyniki badań morfologicznych Boyd i wsp. (5) oraz, opublikowane niedawno, wyniki pracy grupy badaczy z Palermo, którzy wykazali, że w płwocinie indukowanej chorych na OBPS liczba granulocytów obojętnochłonnych jest istotnie więk-

sza, a liczba makrofagów – mniejsza niż u osób z grupy kontrolnej (15). Wśród potencjalnych przyczyn stanu zapalnego dróg oddechowych wymienia się między innymi mechaniczne drażnienie dróg oddechowych oraz ogólnoustrojowy wpływ cytokin zapalnych indukowanych przez stres oksydacyjny wywołany powtarzającymi się epizodami hipoksji (4, 10). Wydaje się więc, że obserwowane przez nas zwiększenie FE_{NO} u chorych na OBPS może być przejawem stanu zapalnego dróg oddechowych.

Inaczej niż Olopade i wsp. (11), nie zaobserwowaliśmy istotnego zwiększenia FE_{NO} w godzinach rannych. Trudno jest wytłumaczyć te rozbieżności. Może mieć na to wpływ nieco odmienna technika pomiaru w godzinach rannych. W grupie badanej przez Olopade i wsp. poranny pomiar wykonywano bezpośrednio po zakończeniu badania polisomnograficznego – około godziny 7 rano, (autorzy nie określili jednak dokładnej godziny jego zakończenia). W Pracowni Polisomnografii naszej Kliniki badania kończone są zazwyczaj około godziny 6 rano, a w całej badanej grupie u około 50% badanych pomiar FE_{NO} został przeprowadzony pomiędzy godziną 6 a 7 rano, a u pozostałych pomiędzy 7 i 8 rano. Jeżeli przyjmie się założenie, że FE_{NO} w godzinach rannych jest u chorych na OBPS najwyższe bezpośrednio po

przebudzeniu a następnie bardzo szybko ulega obniżeniu, to należy powiedzieć, że nie można z całą pewnością wykluczyć istnienia różnic pomiędzy pomiarem wieczornym a porannym. Z jednej strony wydaje się to jednak mało prawdopodobne, szczególnie, że w obecnych badaniach nie stwierdzono zależności pomiędzy poranną wartością FE_{NO} a godziną oznaczenia. Z drugiej jednak, znamienne statystycznie korelacje pomiędzy niektórymi wykładnikami nasilenia zaburzeń oddychania w czasie snu a FE_{NO} oznaczanym w godzinach rannych sugerują istnienie związku pomiędzy bezdechami i hipokseміą w godzinach nocnych a stężeniem wydychanego NO.

Wniosek:

Zaburzenia oddychania w czasie snu mogą prowadzić do zwiększenia stężenia tlenu azotu w powietrzu wydychanym. Dla pełniejszej oceny związku pomiędzy OBPS a podwyższeniem FE_{NO} konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań oceniających wpływ skutecznego leczenia zaburzeń oddychania na FE_{NO} oraz bardziej dokładna analiza wykładników stanu zapalnego dróg oddechowych w tej grupie chorych.

Piśmiennictwo

1. Agustí A. G.N., Barbé F., Togores B. Exhaled nitric oxide in patients with sleep apnea. *Sleep* 1999; 22: 231 – 235.
2. American Thoracic Society. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 912–930.
3. Bates C.A., Silkoff P.E. Exhaled nitric oxide in asthma: from bench to bedside. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 256 – 262.
4. Bergeron C., Kimoff J., Hamid Q. Obstructive sleep apnea syndrome and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 1393–1396.
5. Boyd J.H. i wsp. Upper airway muscle inflammation and denervation changes in obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 541–546.
6. Bucca C. B. i wsp. ACE-inhibitors and obstructive sleep apnoea. *Eur Respir J* 2005; 26 (suppl 49): A2325.
7. Cicolin A i wsp. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and obstructive sleep apnea. *Mayo Clinic Proceedings*. 2006; 81: 53–55.
8. Ip M.S.M., Lam B., Chan L-Y. Circulating nitric oxide is suppressed in obstructive sleep apnea and is reversed by nasal continuous positive airway pressure. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 2166–2171.
9. Kato M. i wsp. Impairment of endothelium-dependent vasodilation of resistance vessels in patients with obstructive sleep apnea. *Circulation* 2000; 102: 2607–2610.
10. Lavie L. Obstructive sleep apnoea syndrome – an oxidative stress disorder. *Sleep Med Rev* 2003; 7: 35 – 51.
11. Olopade C.O. i wsp. Exhaled pentane and nitric oxide levels in patients with obstructive sleep apnea. *Chest* 1997; 111: 1500 – 1504.
12. Przybyłowski T. Pomiar stężenia tlenu azotu w powietrzu wydechowym w chorobach układu oddechowego. W: *Pneumonologia praktyczna* pod red. R. Chazan. α-medica Press, 2005; 234– 244.
13. Przybyłowski T. Zaburzenia oddychania w czasie snu. W: *Pneumonologia praktyczna* pod red. R. Chazan. α-medica Press, 2005: 333 – 365.
14. Rubinstein I. Nasal inflammation in patients with obstructive sleep apnea. *Laryngoscope* 1995; 105: 175 – 177.
15. Salerno F.G. i wsp. Airway inflammation in patients affected by obstructive sleep apnea syndrome. *Respir Med* 2004; 98: 25–28.
16. Sartori C. i wsp.: Exhaled nitric oxide does not provide a marker of vascular endothelial function in healthy humans. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 879 – 882.
17. Schelling J. i wsp. Reduced endogenous nitric oxide in the exhaled air of smokers and hypertensives. *Eur Respir J*, 1994; 7: 467– 471.
18. Schulz R. i wsp. Decreased plasma levels of nitric oxide derivatives in obstructive sleep apnoea: response to CPAP therapy. *Thorax* 2000; 55: 1046–1051.
19. Sekosan M. i wsp. Inflammation in the uvula mucosa of patients with obstructive sleep apnea. *Laryngoscope*. 1996; 106: 1018 – 20.
20. Silkoff P.E.B. i wsp. Endogenous nitric oxide in allergic airway disease. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 438 –48.
21. Smith A.D. i wsp. Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. *N Engl J Med* 2005; 353: 2163 – 71.
22. Sumino H. i wsp. Effect of enalapril on exhaled nitric oxide in normotensive and hypertensive subjects. *Hypertension*. 2000; 36: 934–940.